

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ :

C12P 19/32 // C07H 19/19, 19/20, C12P
19/40, (C12P 19/32, C12R 1:00, 1:38)

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/09244

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

6. April 1995 (06.04.95)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP94/02949

(22) Internationales Anmeldedatum: 6. September 1994 (06.09.94)

(30) Prioritätsdaten:

P 43 33 727.9

28. September 1993 (28.09.93) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Gewerbl. Rechtsschutz, D-13342 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HUMMEL-MARQUARDT, Heidi [DE/DE]; Eisenbahnstrasse 16, D-10709 Berlin (DE). SCHMITZ, Thomas [DE/DE]; Görlitzer Strasse 41, D-10997 Berlin (DE). KENNECKE, Mario [DE/DE]; Taubertstrasse 31f, D-14193 Berlin (DE). WEBER, Alfred [DE/DE]; Schützallee 56, D-14169 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: METHOD OF PREPARING ARABINONUCLEOTIDES

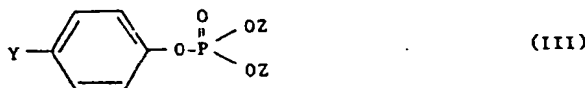
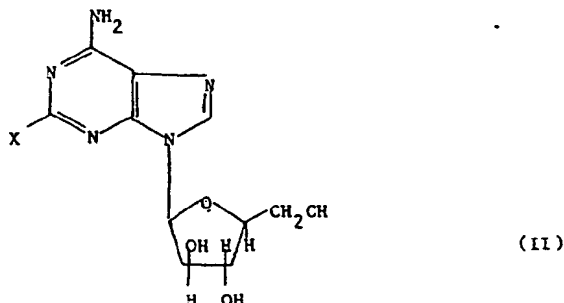
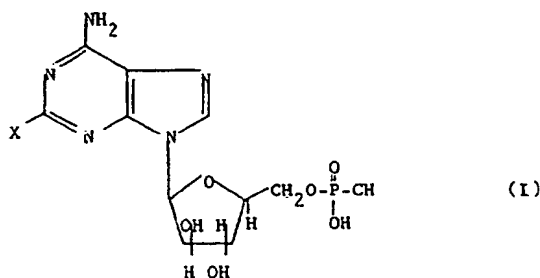
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON ARABINONUKLEOTIDEN

(57) Abstract

Described is a method of preparing arabinonucleotides of general formula (I), in which X is a hydrogen or fluorine atom. The method is characterized in that an arabinonucleoside of general formula (II), in which X is as defined above, is fermented with a microorganism capable of phosphorylating nucleosides, the fermentation being carried out in the presence of an aryl phosphate of general formula (III), in which Y is a hydrogen atom or a nitro group and the two Z groups are both hydrogen atoms or both alkali-metal atoms.

(57) Zusammenfassung

Ein Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel (I), worin X ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom darstellt wird beschrieben, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein Arabinonukleosid der allgemeinen Formel (II), worin X die oben genannte Bedeutung besitzt, in Gegenwart eines Arylphosphats der allgemeinen Formel (III), worin Y ein Wasserstoffatom oder eine Nitrogruppe und Z zwei Wasserstoffatome oder zwei Alkalimetallatome symbolisiert, mit einem zur Phosphorylierung von Nucleosiden befähigten Mikroorganismus fermentiert.



BEST AVAILABLE COPY

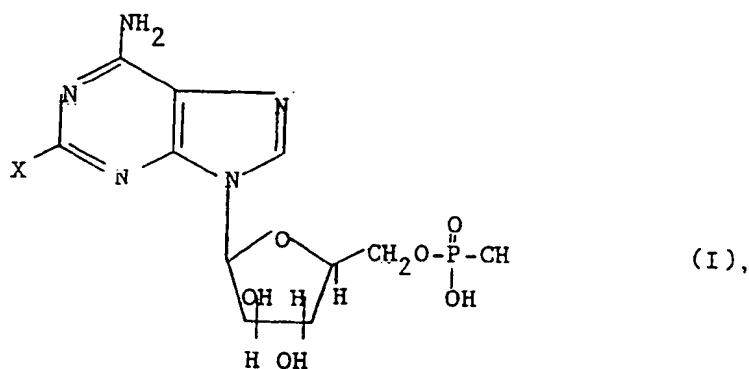
LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|----|--------------------------------|----|-----------------------------------|----|--------------------------------|
| AT | Österreich | GA | Gabon | MR | Mauretanien |
| AU | Australien | GB | Vereinigtes Königreich | MW | Malawi |
| BB | Barbados | GE | Georgien | NE | Niger |
| BE | Belgien | GN | Guinea | NL | Niederlande |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | NO | Norwegen |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | NZ | Neuseeland |
| BJ | Benin | IE | Irland | PL | Polen |
| BR | Brasilien | IT | Italien | PT | Portugal |
| BY | Belarus | JP | Japan | RO | Rumänien |
| CA | Kanada | KE | Kenya | RU | Russische Föderation |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KG | Kirgisistan | SD | Sudan |
| CG | Kongo | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | SE | Schweden |
| CH | Schweiz | KR | Republik Korea | SI | Slowenien |
| CI | Côte d'Ivoire | KZ | Kasachstan | SK | Slowakei |
| CM | Kamerun | LI | Liechtenstein | SN | Senegal |
| CN | China | LK | Sri Lanka | TD | Tschad |
| CS | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| CZ | Tschechische Republik | LV | Lettland | TJ | Tadschikistan |
| DE | Deutschland | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| DK | Dänemark | MD | Republik Moldau | UA | Ukraine |
| ES | Spanien | MG | Madagaskar | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| FI | Finnland | ML | Mali | UZ | Usbekistan |
| FR | Frankreich | MN | Mongolei | VN | Vietnam |

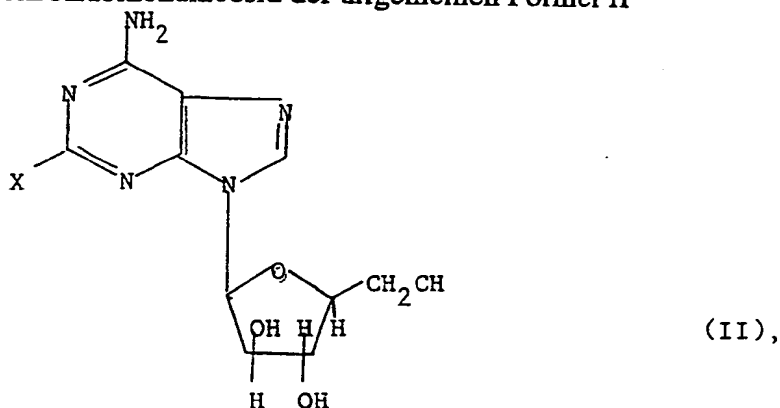
Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I

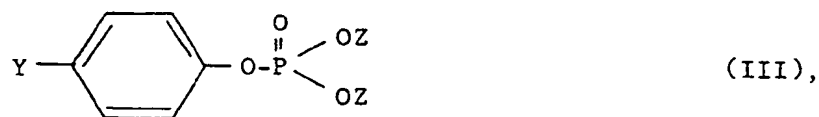


worin

X ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom darstellt, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein Arabinonukleosid der allgemeinen Formel II



worin X die oben genannte Bedeutung besitzt, in Gegenwart eines Arylphosphats der allgemeinen Formel III



worin

Y ein Wasserstoffatom oder eine Nitrogruppe und

Z zwei Wasserstoffatome oder zwei Alkalimetallatome symbolisiert, mit einem zur Phosphorylierung von Nucleosiden befähigten Mikroorganismus fermentiert.

Die Arabinonucleotide der allgemeinen Formel I, das 9(5-O-Phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-9-H-purin-6-amin (=Vidarabinphosphat) und das 2-Fluor-9-(5-O-phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin (=Fludarabinphosphat) sind bekanntlich pharmakologisch wirksame Substanzen, die sich durch eine antivirale und cylostatische Wirksamkeit auszeichnen (EP-A 317,728 und WO 9209604).

Nach den bekannten Verfahren werden diese Verbindungen durch Phosphorylierung der entsprechenden Nucleoside hergestellt (Bull. of th. Chem. Soc. Japan 42, 1969, 3505-3508), New Journal of Chem. 11, 1987, 779-785 und WO 9209604). Bei diesem Verfahren erhält man stark verunreinigte Rohprodukte, deren Aufreinigung sehr aufwendig und verlustreich sind.

Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht es, diese Substanzen in relativ einfacher Weise in wesentlich reinerer Form zu synthetisieren, als dies mittels der vorbekannten Verfahren möglich ist.

Dies ist für den Fachmann überraschend. Aus den Untersuchungen von Koji Misugi et al. (Agr.Biol.Chem. 28, 1964, 586-600) ist zwar schon lange vorbekannt, daß man das Nucleosid Inosin mikrobiologisch phosphorylieren kann, man mußte aber erwarten, daß man bei der Phosphorylierung der Nucleoside der allgemeinen Formel II wesentlich ungünstigere Ergebnisse erzielen würde. Dies insbesondere aus zwei Gründen: Aus den Arbeiten v on Koji Mitsugi et al. ist bekannt, daß man bei der Phosphorylierung von Inosin oft Gemische isomerer Nucleotide erhält. Es war demzufolge zu erwarten, daß man bei der Phosphorylierung der Nucleoside der allgemeinen Formel II im gleichen - wenn nicht sogar im verstärkten Maße Isomerengemische erhalten würde.

Es ist bekannt, daß Adenosin im Körperstoffwechsel unter Desaminierung und Oxidation abgebaut wird (Römpps Chemie-Lexikon, 8te Auflage, Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart (DE) 65) und es war demnach zu befürchten, daß bei der mikrobiologischen Umsetzung der Adenin-Derivate der allgemeinen Formel II zumindest partiell ebenfalls ein Abbau der Verbindungen eintreten würde.

Wie eigene Versuche, die mit dem auch von Koji Mitsugi et al. erwähnten Mikroorganismus *Pseudomonas trifolii* (IAM 1309 nach einer Untersuchung des DSM-Identifikationsdienstes ist seine ist er heute als *Pantoea agglomerans* eingeordnet) treten die geschilderten befürchteten Nachteile bei der Phosphorylierung der Nucleoside der

allgemeinen Formel II nicht auf, sondern die Reaktion scheint sogar noch günstiger zu verlaufen als diejenige des Inosins.

Mit hoher Wahrscheinlichkeit kann das erfindungsgemäße Verfahren nicht nur mit dem getesteten Mikroorganismus *Pseudomonas trifolii* (IAM 1309), sondern auch mit anderen Mikroorganismen, die von Koji Mitsugi et al. als zur Phosphorylierung von Nucleosiden als geeignet beschrieben sind, durchgeführt werden. Es sind dies beispielsweise die Mikroorganismen:

| | |
|------------------------------------|--|
| <i>Pseudomonas trifolii</i> | IAM 1543 und IAM 1555 |
| <i>Pseudomonas perluridia</i> | IAM 1589, IAM 1600, IAM 1610 und IAM 1627, |
| <i>Pseudomonas melanogenum</i> | F-11, |
| <i>Alcaligenes visco lactis</i> | ATCC 9039 und IFM AN-14, |
| <i>Achromobacter superficialis</i> | IAM 1433 |
| <i>Flavobacterium lactis</i> | IFM F101 |
| <i>Flavobacterium fuscum</i> | IAM 1181 |
| <i>Flavobacterium flavescens</i> | IFO 3085 |
| <i>Flavobacterium breve</i> | IFM S-15 |
| <i>Serratina marcescens</i> | IAM 1022, IAM 1065, IAM 1067, IAM 1104, IAM 1135, IAM 1161, IAM 1205, IAM 1223, IAM 1703 |

und weitere Mikroorganismen, die in dieser Publikation aufgeführt sind.

Das erfindungsgemäße Verfahren muß, um eine ausreichende Phosphorylierung der nur sehr aufwendig herstellbaren Arabinonucleoside der allgemeinen Formel II zu erzielen, in Gegenwart eines großen Überschusses an einem Phosphatdonator durchgeführt werden. Geeignete Phosphatdonatoren sind unter anderem Arylphosphate, wie das Phenylphosphat oder das p-Nitrophenylphosphat. Üblicherweise verwendet man pro mol umzusetzendem Nucleosid 2-5 mol Phosphatdonator.

Da die in Bakterien vorkommenden Proteasen meist alkalische Proteasen sind, die Zinkproteine darstellen und meist Magnesiumionen zur Entfaltung ihrer Wirksamkeit benötigen, ist es zweckmäßig, die Umsetzung in Gegenwart von 0,2 bis 4,0 % eines wasserlöslichen Zinksalzes, wie zum Beispiel Zinksulfat-Dihydrat oder gegebenenfalls auch in Gegenwart von 0,01 bis 0,3 % eines wasserlöslichen Magnesiumsalzes, wie Magnesiumsulfat-Heptahydrat durchzuführen.

Abgesehen von den genannten Bedingungen kann das erfindungsgemäße Verfahren unter den gleichen Bedingungen durchgeführt werden, die man üblicherweise bei der Fermentation von Substraten mit Bakterienkulturen anwendet. Die Bakterienkultur wird in einem geeigneten Medium angezüchtet, das Substrat und die Hilfsstoffe zugesetzt und die Kultur unter Rühren und Belüften fermentiert bis eine maximale Substratumwandlung erreicht wird.

Wendet man dieses Verfahren an, so erhält man in der Regel Fermentationsbrühen, bei denen das Verfahrensprodukt nur schwer vom Fermentationsmedium abtrennbar ist.

Deshalb erscheint es in der Regel zweckmäßiger, die Reaktion unter den Bedingungen des resting-cell-Verfahrens durchzuführen. Zu diesem Zwecke werden die Bakterienkulturen in einem üblichen Medium angezüchtet, die Bakterien durch Zentrifugieren abgetrennt, gewaschen, eventuell gefriergetrocknet - um sie lagerfähig zu machen - in einer isotonischen Pufferlösung resuspendiert, mit Substrat und Hilfsstoffen versetzt und bei 20 bis 40°C fermentiert, bis eine maximale Substratumwandlung erreicht ist. Unter diesen Gegebenheiten bereitet die Aufbereitung des Ansatzes keine Schwierigkeiten, das Zellmaterial wird abzentrifugiert, der Überstand eingeengt und das ausgefallene Verfahrensprodukt, welches durch leicht abtrennbares Ausgangsmaterial verunreinigt sein kann, abfiltriert.

Die nachfolgenden Ausführungsbeispiele dienen zur Erläuterung des erfindungsgemäßen Verfahrens:

Beispiel 1

a) Eine Petrischale mit einem Medium enthaltend

1 % Pepton

0,2 % Hefeextrakt

0,1 % Magnesiumsulfat-Heptahydrat und

1,5 % Agar

- eingestellt auf pH 7.0 -

wird mit einer Trockenkultur von *Pseudomonas trifolii* IAM 1309 beimpft und 16 Stunden bei 30° lang inkubiert.

b) Ein 2 l Erlenmeyerkolben mit 1 l Mediums enthaltend

1 % Pepton

0,2 % Hefeextrakt und

0,1 % Magnesiumsulfat-Heptahydrat

- eingestellt auf pH 7 -

wird mittels einer Öse mit der gemäß a) hergestellten Vorkultur beimpft und 16 Stunden lang bei 30°C mit 180 Umdrehungen pro Minute inkubiert. Dann werden die Zellen 15 Minuten lang mit 6000 Umdrehungen pro Minute bei 10°C abzentrifugiert, mit 200 ml einer 0,02%igen wässrigen Kaliumchloridlösung gewaschen, in 20 ml einer 0,02%igen wässrigen Kaliumchloridlösung suspendiert, bei -20°C eingefroren und 20 Stunden lang gefriergetrocknet. Zum Gebrauch werden die gefriergetrockneten Zellen bei Raumtemperatur gelagert.

c) In Schraubflaschen werden in 0,5 M Natriumacetatpuffer von pH 4,5 pro l

2,0 g 2-Fluor-9-(β -D-Arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin,

0,12 g Zinksulfat-Dihydrat,

1,0 g gemäß Beispiel 1b hergestellte gefriergetrocknete *Pseudomonas trifolii* IAM 1309 Kultur und

8,0 g Dinatrium-p-nitrophenylphosphat

eingetragen und die Reaktionsmischen 40 Stunden lang bei 40°C mit 60 Umdrehungen pro Minute geschüttelt.

Dann zentrifugiert man die Zellen mit 8000 Umdrehungen pro Minute ab, engt den Überstand im Rotationsverdampfer bei maximal 50°C auf 1/20 des ursprünglichen Volumens ein, filtriert das abgeschiedene Rohprodukt ab, wäscht es mit Wasser und trocknet es 24 Stunden lang bei 100°C und 10000Pa.

Laut HPLC Analyse des erhaltenen Rohprodukts sind bei diesem Versuch ca. 50% 2-Fluor-9-(5-O-phosphono-β-D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin gebildet worden.

Beispiel 2

Unter den Bedingungen des Beispiels 1c, aber unter Zusatz von 16g/l Dinatrium-p-nitrophenylphosphat anstelle von 8g/l werden 2,0 g/l 2-Fluor-9(β-D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin 40 Stunden lang bei 40°C mit 60 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Die Aufarbeitung der Reaktionsmischung erfolgt wie in Beispiel 1c beschrieben und man erhält ca. 60% 2-Fluor-9-(5-O-phosphono-β-D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin.

Beispiel 3

Unter den Bedingungen des Beispiels 1c aber unter Zusatz von 40g/l Dinatrium-p-nitrophenylphosphat anstelle von 8g/l werden 2,0 g/l 2-Fluor-9(β-D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin 100 Stunden lang bei 40°C mit 60 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Die Aufarbeitung der Reaktionsmischung erfolgt wie in Beispiel 1c beschrieben und man erhält ca. 85% 2-Fluor-9-(5-O-phosphono-β-D-arabinofuranosyl)-9-H-purin-6-amin.

Beispiel 4

Unter den Bedingungen des Beispiels 1c aber unter Zusatz von 20g/l Dinatriumphenylphosphat anstelle von 8g/l Dinatrium-p-nitrophenylphosphat werden 2,0g/l 2-Fluor-9-(β -D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin 100 Stunden lang bei 40°C mit 60 Umdrehungen pro Minute geschüttelt. Die Aufarbeitung der Reaktionsmischung erfolgt wie in Beispiel 1c beschrieben und man erhält ca. 50% 2-Fluor-9-(5-0-phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin.

Beispiel 5

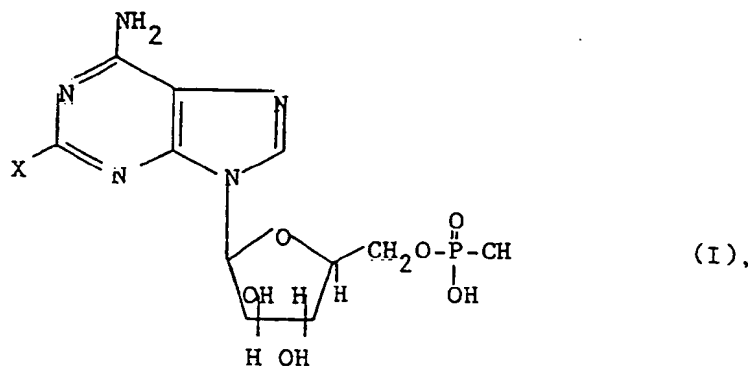
Unter den Bedingungen des Beispiels 4 aber unter Zusatz von 30g/l Dinatriumphenylphosphat anstelle von 20g/l werden 2,0g/l 2-Fluor-9-(β -D-arabinofuranosyl)-9H-purin-6-amin umgesetzt, aufbereitet und man erhält 60% 2-Fluor-9-(5-0-phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-9-H-purin-6-amin.

Beispiel 6

Unter den Bedingungen des Beispiels 4 aber unter Zusatz von 40g/l Dinatriumphenylphosphat anstelle von 20g/l werden 2,0g/l 2-Fluor-9-(β -D-arabinofurynosyl)-9H-purin-6-amin umgesetzt, aufbereitet und man erhält 70% 2-Fluor-9-(5-0-phosphono- β -D-arabinofuranosyl)-9-H-purin-6-amin.

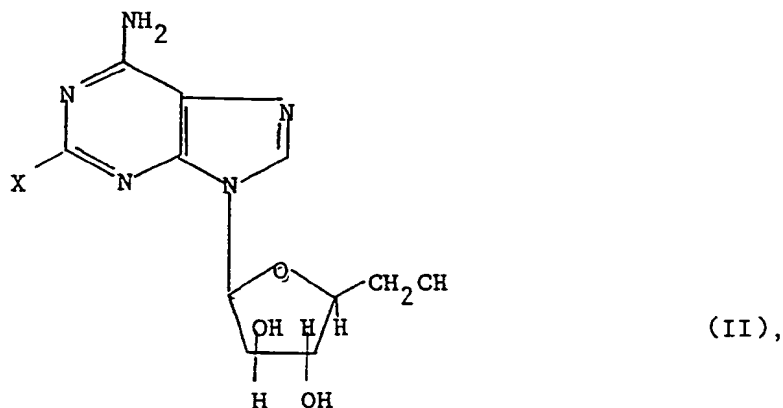
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I

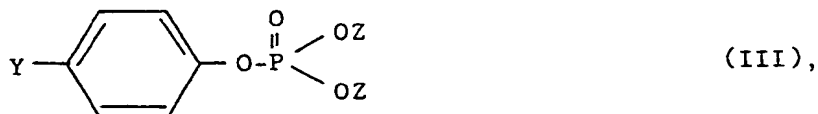


worin

X ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom darstellt, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein Arabinonukleosid der allgemeinen Formel II



worin X die oben genannte Bedeutung besitzt, in Gegenwart eines Arylphosphats der allgemeinen Formel III



worin

Y ein Wasserstoffatom oder eine Nitrogruppe und

Z zwei Wasserstoffatome oder zwei Alkalimetallatome symbolisiert,

mit einem zur Phosphorylierung von Nucleosiden befähigten Mikroorganismus fermentiert.

2. Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I gemäß Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man die Fermentation in Gegenwart eines wasserlöslichen Zink(II)-salzes durchführt.
3. Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I gemäß Patentanspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man die Fermentation unter den Bedingungen des resting cell-Verfahrens durchführt.
4. Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I gemäß Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Fermentation einen Mikroorganismus der Spezies *Pseudomonas trifolii* verwendet.
5. Verfahren zur Herstellung von Arabinonukleotiden der allgemeinen Formel I gemäß Patentanspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Fermentation einen Mikroorganismus der Spezies *Pseudomonas trifolii* IAM 1309 verwendet.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/02949

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPC6: C12P 19/32 // C07H 19/19, 19/20, C12P 19/40, (C12P 19/32, C12R1:00, C12R1:38)

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPC6: C12P, C07H

Recherche, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, CAS, WPI, EPODOC


C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X | DE, A, 1517836 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.), 24 September 1970 (24.09.70), see especially examples -- | 1-5 |
| X | Patent Abstracts of Japan, Band 5, Nr 152, C-75, abstract of JP, A, 56-82098 (AJINOMOTO K.K.), 4 Juli 1981 (04.07.81) -- | 1-5 |
| X | Patent Abstracts of Japan, Band 7, Nr 219, C-188, abstract of JP, A, 58-116698 (AJINOMOTO K.K.), 11 Juli 1983 (11.07.83) -- | 1-5 |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen.

☒ Siehe Anhang Patentfamilie.

| | |
|--|---|
| <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"B" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> | <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> |
|--|---|

| | |
|---|---|
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
| 15 Dezember 1994 | 13.01.95 |
| Nahme und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde | Bevollmächtigter Bediensteter |
|  <p>Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentplan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-7040, Tx. JI 651 epo nl Fax (+31-70) 340-3016</p> | PATRICK ANDERSSON |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/02949

| C (Fortsetzung). ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
|---|--|--------------------|
| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| A | WO, A1, 9209604 (BERLEX BIOSCIENCES, INC.), 11 Juni 1992 (11.06.92) -- ----- | 1-5 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT
Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören
26/11/94

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/02949

| Im Recherchenbericht angeführtes Patendokument | | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | | Datum der Veröffentlichung |
|---|---------|-------------------------------|-----------------------------------|---------|-------------------------------|
| DE-A- | 1517836 | 24/09/70 | FR-A- | 1525062 | 00/00/00 |
| | | | GB-A- | 1145310 | 00/00/00 |
| <hr/> | | | | | |
| WO-A1- | 9209604 | 11/06/92 | US-A- | 5180824 | 19/01/93 |
| <hr/> | | | | | |

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images problems checked, please do not report the problems to the IFW Image Problem Mailbox

THIS PAGE BLANK (USPTO)